



В. В. Бойко,
Е. В. Шапринский,
В. П. Невзоров,
О. Ф. Невзорова

ГУ «Институт общей
и неотложной хирургии
им. В. Т. Зайцева НАМН
Украины», г. Харьков

Винницкий национальный
медицинский университет
им. Н. И. Пирогова

© Коллектив авторов

ИЗМЕНЕНИЯ УЛЬТРАСТРУКТУРНОЙ ОРГАНИЗАЦИИ КЛЕТОК СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ПИЩЕВОДА КРЫС С МОДЕЛИРОВАННОЙ СТРИКТУРОЙ ТРЕТЬЕЙ СТЕПЕНИ

Резюме. Проведено электронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации базальных, шиповатых, поверхностных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия, гладких миоцитов мышечной пластинки и сократительных элементов мышечного слоя пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Выявлено, что очаговому лизису подвергалась ядерная мембрана, мембраны митохондрий, эндоплазматического ретикулума и пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. В клетках пищевода со стриктурой третьей степени развиваются катаболические процессы, ведущие к распаду органелл.

Ключевые слова: ультраструктура клеток пищевода, структура пищевода, катаболические процессы.

Введение

Внедрение в последнее время различных современных методов диагностики и лечения стенозирующих заболеваний пищевода [1, 2, 5] не привело к улучшению результатов и уменьшению уровня осложнений. Остается высокий уровень таких ранних и поздних осложнений, как: несостоятельность швов пищеводно-органных анастомозов, развитие инфекционных осложнений, пневмонии, эмпиемы плевры, медиастенита, перитонита, развитие послеоперационных рубцовых стриктур и др. Кроме того, остается высокой и послеоперационная летальность – 3,5–30 % [3, 6, 7]. Поэтому нами для выработки единой патогенетической тактики лечения стриктур пищевода и улучшения его результатов было предложено моделирование стриктуры пищевода в эксперименте и изучение ультраструктурных изменений слизистой оболочки самой стриктуры [4].

Цель работы

Изучить динамику ультраструктурных изменений стенки пищевода в норме и при третьей степени его стриктуры.

Материалы и методы исследований

Экспериментальные исследования выполнялись на белых крысах, самцах, массой от 250 до 300 г. Эксперименты проводили в соответствии с общими принципами экспериментов над животными, принятыми I национальным конгрессом по биоэтике (Киев, 2001) и согласованными с положениями Европейской конвенции о защите позвоночных животных, которые используются в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986).

Всем животным исследуемой группы (10 крыс) создавалась модель стриктуры пи-

щевода третьей степени. В своих опытах мы создавали модель стриктуры пищевода следующим образом: после послойного вскрытия передней брюшной стенки полностью перевязывали абдоминальный отдел пищевода. В группе контроля (6 крыс) выполняли раскрытие передней брюшной стенки с последующим послойным ее ушиванием. Животных выводили из эксперимента на 3 суток посредством передозировки кетамина и выполняли забор материала для ультраструктурного исследования.

Материалом для электронно-микроскопического исследования послужили иссеченные кусочки ткани слизистой оболочки пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. В качестве контроля качества гистологической обработки ткани использовали кусочки слизистой оболочки пищевода интактных экспериментальных животных. Кусочки ткани сразу после забора помещали в 2,5 % забуференный раствор глутарово-формальдегидного фиксатора при температуре 4 °С для предварительной фиксации. После промывки в буферном растворе ткань переносили для окончательной фиксации в 1 % забуференный раствор четырёхоксида осмия на 3-4 часа. Обезживание проводили в спиртах возрастающей концентрации и ацетоне. Ткань заключали в смесь эпоксидных смол (эпон-аралдит) по общепринятым методикам. Полимеризацию блоков осуществляли в термостате при температуре 60 °С в течение двух суток. Из полученных блоков, на ультрамикротоме УМТП-3, изготавливали ультратонкие срезы, которые монтировали на электролитические сеточки и, после контрастирования цитратом свинца, изучали под электронным микроскопом ЭМВ – 100 БР при ускоряющем напряжении 75 кв.



Результаты исследований и их обсуждение

Электронно-микроскопическое исследование клеток пищевода интактных крыс подтвердило удовлетворительную гистологическую фиксацию ткани. Субмикроскопическая организация органелл клеток слизистой оболочки пищевода соответствовала современным представлениям. Деструкции внутриклеточных мембранных структур в препаратах отсутствовали.

При электронно-микроскопическом исследовании базальных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия пищевода со стриктурой третьей степени выявлено преобладание деструктивных нарушений внутриклеточных мембран и органелл этих клеток. Ядерная мембрана была разрыхлена, имела множественные очаги лизиса. Матрикс ядра сильно просветлён, преимущественно в центральной области ядра. Ядерная мембрана имела мелкие и глубокие инвагинации (рис. 1).

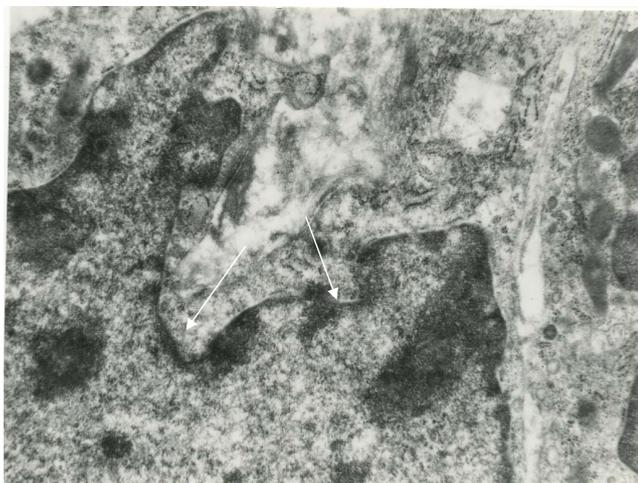


Рис. 1. Ультраструктура базальных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Инвагинации ядерной мембраны (стрелка) и очаги разрыхления, $\times 38000$

Ядрышки в клетках практически отсутствовали. Большая часть ядерного хроматина находилась в конденсированном состоянии, его глыбки концентрировались вдоль ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства неравномерно расширены. В перинуклеарной области цитоплазмы локализовались митохондрии с просветлённым матриксом и дезорганизованными кристами. Зачастую можно было наблюдать очаговый лизис наружных мембран и крист митохондрий. Наряду с этим в клетках присутствовали митохондрии с тотально разрушенными кристами. Эти митохондрии имели вид вакуолей, заполненных конгломератом бесструктурной субстанции, обладающей различной степенью электронной плотности (рис. 2).

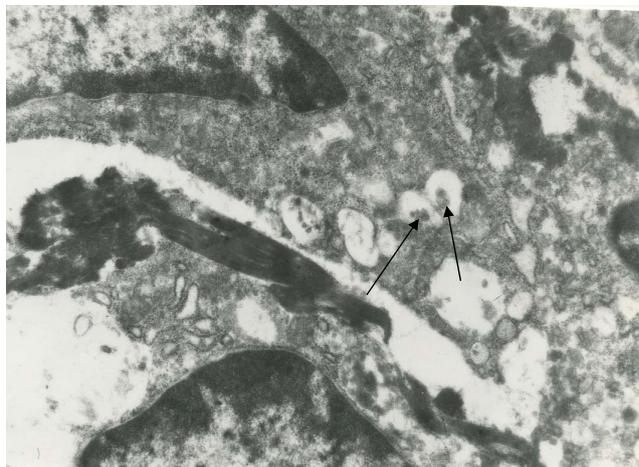


Рис. 2. Ультраструктура базальных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Лизис крист митохондрий (стрелка), $\times 36000$

Цистерны гранулярного эндоплазматического ретикулума расширены, имели вид вакуолей, заполненных преимущественно электронно-прозрачным веществом. На мембранах гранулярного эндоплазматического ретикулума практически отсутствовали рибосомы. Свободных рибосом и полисом в цитоплазме очень мало. В препаратах встречались базальные эпителиоциты с фрагментированными мембранами гранулярной эндоплазматической сети.

Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи подвержен редукции, имел беспорядочно ориентированные гладкие мембраны, окружённые небольшим количеством крупных электронно-прозрачных везикул. В цитоплазме, в области локализации пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи обнаруживались вторичные лизосомы и мелкие включения липидов (рис. 3).

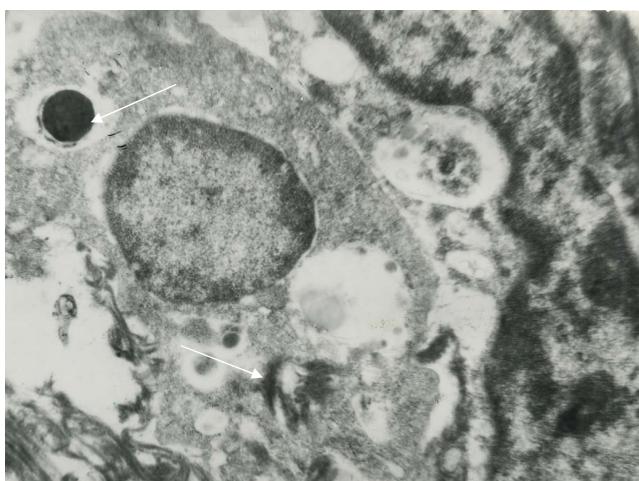


Рис. 3. Ультраструктура базальных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Вторичные лизосомы в цитоплазме (стрелка), $\times 40000$

Цитоплазматическая мембрана имела разрыхлённую структуру, была утолщена, подвержена деформации и имела высокую степень электронной плотности. Иногда наблюдались множественные очаги её лизиса и разрыхления.

Шиповатые эпителиальные клетки слизистой оболочки пищевода содержали скопления осмиофильных гранул гликогена. В периферических отделах цитоплазмы эпителиоцитов шиповатого слоя располагались произвольно ориентированные тонофибриллы, которые иногда были дезорганизованы. Ядерный хроматин находился преимущественно в конденсированной форме, его глыбки были собраны в плотное осмиофильное кольцо, располагающееся по контуру ядерной мембраны. Перинуклеарные пространства неравномерно, вакуолеобразно расширены. Разрыхление ядерной мембраны сопровождалось появлением многочисленных очагов лизиса. В цитоплазме эпителиоцитов располагалось небольшое количество митохондрий, матрикс которых был электронно-прозрачен. Митохондрии имели единичные укороченные кристы. Наружные мембраны и кристы подавляющего количества митохондрий имели очаги деструкции. Встречались и тотально разрушенные митохондрии. Расширение цистерн гранулярного эндоплазматического ретикулула сопровождалось уменьшением числа рибосом, связанных с его мембранами. Встречались шиповатые эпителиоциты с фрагментированными мембранами гранулярного эндоплазматического ретикулула. В цитоплазме практически отсутствовали свободные полисомы и рибосомы. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован и представлен единичными гладкими мембранами, вблизи которых находились крупные электронно-прозрачные вакуоли. В области расположения пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи выявлялись вторичные лизосомы и крупные включения липидов (рис. 4).

Межклеточные пространства сильно расширены, содержали небольшое количество цитоплазматических отростков и были заполнены электронно-прозрачной субстанцией. Цитоплазматическая мембрана была сильно разрыхлена, имела большое количество очагов деструкции. Отдельные микроворсинки тотально разрушены.

Эпителиоциты поверхностного слоя многослойного эпителия пищевода имели уплощённую форму. Ядерная мембрана эпителиоцитов поверхностного слоя тотально разрушена. В их цитоплазме выявляется небольшое количество деструктивно и дегенеративно изменённых органелл. У подавляющего количества клеток органеллы и мембранные комплексы

очагово разрушены. На цитоплазматической мембране небольшое количество десмосом. Цитоплазматическая мембрана утолщена, её чётко контурированная структура нарушена.



Рис. 4. Ультраструктура шиповатых эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Крупные включения липидов в цитоплазме (стрелка), $\times 41\ 000$

Ультраструктурная организация гладких миоцитов мышечной пластинки слизистой оболочки крыс пищевода с моделированной стриктурой третьей степени претерпевала деструктивные и дистрофические нарушения. Ядра гладких миоцитов имели вытянутую форму, ядерный хроматин находился в деконденсированном состоянии, гранулы его равномерно распределялись по площади среза ядра. Иногда в матриксе ядра встречались глыбки конденсированного хроматина, которые были хаотично рассеяны в матриксе. Перинуклеарные пространства равномерно расширены. Довольно часто можно было наблюдать лизис участков ядерной мембраны. В целом ядерная мембрана очень сильно разрыхлена. Органеллы в цитоплазме гладких миоцитов располагались в виде скоплений в перинуклеарной области. Митохондрий мало, они находились в различной степени набухания и содержали электронно-прозрачный матрикс. Митохондрии имели единичные дезорганизованные кристы. У части митохондрий наблюдались очаги разрушения наружных мембран и крист. Цистерны эндоплазматического ретикулула расширены, заполнены тонковолокнистым веществом. В некоторых гладких миоцитах мембраны эндоплазматического ретикулула были подвержены фрагментации. Цитоплазматическая мембрана сильно разрыхлена и утолщена, вблизи неё в цитоплазме обнаруживалось небольшое количество кавеол. В цитоплазме гладких миоцитов присутствовали беспорядочно ориентированные скопления миофиламентов.



Поперечнополосатая мышечная ткань мышечной оболочки пищевода в области стриктуры третьей степени имела субмикроскопическую организацию, характерную для преобладания деструктивных процессов над дистрофическими. Ядра поперечнополосатых мышечных волокон сохраняли дистрофически типичную удлинённую форму и содержали, большей частью, равномерно распределённые гранулы деконденсированного хроматина. Матрикс ядра был просветлен. Ядерная мембрана разрыхлённая, содержит значительное количество очагов деструкции. Перинуклеарные пространства умеренно и равномерно расширены. Митохондрии локализовались между миофибриллами в виде округлых и неправильной формы образований, ограниченных элементарной мембраной. Матрикс митохондрий имел грубо волокнистую структуру и очень высокую электронную плотность. Наружные мембраны и кристы митохондрий очагово лизированы. Очень часто встречались полностью разрушенные митохондрии (рис. 5).

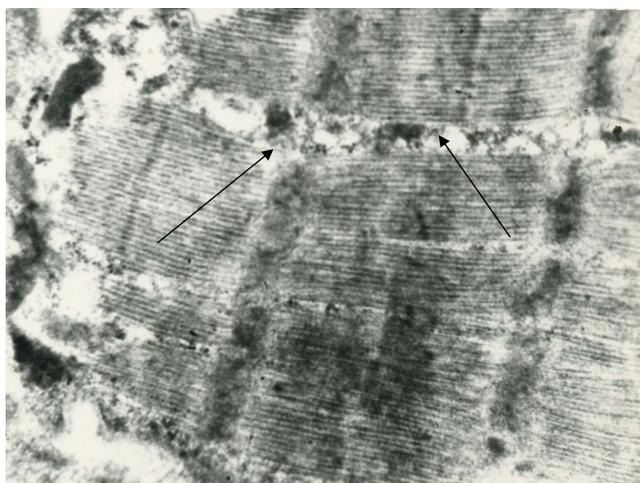


Рис. 5. Ультраструктура поперечнополосатых мышц пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени. Просветление саркоплазмы и лизис мембран митохондрий (стрелка), $\times 39000$

В саркоплазме сохраняется параллельная ориентация пучков миофибрилл и поперечная исчерченность. Встречаются участки миосимпласта с разветвлёнными и истончёнными сократительными элементами. Саркоплазма просветлена, в ней между миофибриллами обнаруживались скопления гранул гликогена. Канальцы саркоплазматической сети расширены и представляют собой везикулы, заполненные электронно-прозрачной субстанцией. Саркоплазматическая мембрана теряет чётко контурированную структуру, приобретает высокую степень осмиофилии. Зачастую в ней определяются участки лизиса.

Ядра эндотелиоцитов кровеносных капилляров слизистой оболочки пищевода в области

стриктуры третьей степени имели неправильную форму. Ядерная мембрана образовывала многочисленные мелкие и глубокие инвагинации. Матрикс ядра обладал повышенной электронной плотностью. Конденсированный ядерный хроматин концентрировался вдоль ядерной мембраны. В центральной области матрикса ядра образовывалась зона электронной прозрачности, в которой локализовались единичные беспорядочно разбросанные по матриксу гранулы конденсированного и глыбки деконденсированного хроматина, а также рибосомы. Гиалоплазма эндотелиальных клеток кровеносных капилляров отёчна, обладает низкой электронной плотностью, содержит небольшое количество органелл, рибосом и полисом. В цитоплазме отдельных эндотелиоцитов присутствовали вторичные лизосомы и включения липидов. Митохондрии эндотелиоцитов мелкие, обладают округлой формой и электронно-прозрачным матриксом. Они сильно набухшие, кристы их подвержены лизису и фрагментации. Матрикс митохондрий просветлён, в нем иногда обнаруживались миелиноподобные структуры. Гранулярный эндоплазматический ретикулум подвержен вакуолизации. Обнаруживаются эндотелиоциты, содержащие фрагментированные мембраны гранулярного эндоплазматического ретикулума. Пластинчатый цитоплазматический комплекс Гольджи редуцирован, его гладкие мембраны дезорганизованы и большей частью разрушены. В цитоплазме отростков эндотелиальных клеток выявляется небольшое количество микропиноцитозных пузырьков. Цитоплазматическая мембрана эндотелиоцитов, контактирующая с кровью, имеет многочисленные участки лизиса. В просвете капилляра, кроме клеточных элементов крови, обнаруживается детрит, состоящий из дегенеративно изменённых фрагментов мембран, органелл и аморфной субстанции, вероятно, липопротеидной природы.

Проведенное электронно-микроскопическое исследование субмикроскопической организации базальных, шиповатых, поверхностных эпителиоцитов многослойного неороговевающего эпителия, гладких миоцитов мышечной пластинки и сократительных элементов мышечного слоя пищевода крыс с моделированной стриктурой третьей степени показало превалирование деструктивных нарушений. Очаговому лизису подвергалась ядерная мембрана, мембраны митохондрий, эндоплазматического ретикулума и пластинчатого цитоплазматического комплекса Гольджи. Вследствие этих нарушений страдает биоэнергетика всех клеток пищевода. Репаративные, метаболические и синтетические



внутриклеточные процессы дезактивированы, что структурно подтверждается снижением количества рибосом и полисом в цитоплазме, а также разрыхлением, очаговым, а иногда и тотальным, лизисом мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума. Ультраструктурные изменения органелл гладких миоцитов и поперечно полосатых мышечных волокон в области стриктуры пищевода свидетельствуют о снижении сократительной возможности этих клеток. Субмикроскопические нарушения эндотелиоцитов капиллярного русла пищевода свидетельствуют о развитии внутриклеточного отёка. Отсутствие в цитоплазме отростков эндотелиальных клеток микропиноцитозных пузырьков указывает на почти полное прекращение трансцеллюлярного транспорта веществ, воды и электролитов. Ультраструктура кле-

ток пищевода со стриктурой третьей степени свидетельствует о нарастании катаболических внутриклеточных процессов, что структурно подтверждается выявлением в цитоплазме вторичных лизосом и включений липидов.

Выводы

1. Моделированная стриктура третьей степени вызывает деструктивные нарушения в ультраструктурной архитектонике клеток многослойного неороговевающего эпителия, гладких миоцитов мышечной пластинки и сократительных элементов мышечного слоя пищевода крыс.

2. Ультраструктура клеток пищевода со стриктурой третьей степени свидетельствует о нарастании катаболических внутриклеточных процессов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Багиров М. М. Применение тотальной и субтотальной эзофагопластики в лечении рубцового стеноза пищевода / М. М. Багиров, Р. И. Верещако // Клінічна хірургія. – 2008. – № 8. – С. 11-15.
2. Восстановленные операции по поводу рубцовой послеожоговой стриктуры пищевода / В. Ф. Саенко, С. А. Андреешев, П. Н. Кондратенко, С. Д. Мясоедов // Клінічна хірургія. – 2002. – № 5-6. - С. 4.
3. Пластика пищевода толстой кишкой у больных с ожоговыми стриктурами пищевода / А. Ф. Черноусов, В. А. Андрианов, А. И. Чернооков [и др.] // Хирургия. – 2003. – № 7. – С. 50-54.
4. Саркисов Д. С. Микроскопическая техника. Руководство / Д. С. Саркисов, Ю. Л. Перов. – М. : Медицина, 1996. – 544 с.
5. Хирургическое лечение сочетанных стриктур пищевода и желудка / Н. Р. Рахметов, Д. С. Жетимкаринов, В. А. Хребтов [и др.] // Хирургия. – 2003. – № 11. – С. 17-19.
6. Dantas R. O. Motility of the transverse colon used for esophageal replacement / R. O. Dantas, R. C. Matede // J.Clin Gastroenterol. – 2002. – Vol. 34, № 3. – P. 225-228.
7. Maish M. S. Indications and technique of colon and jejunal interposition for esophageal disease / M. S. Maish, C. Denschamps // Surg. Clin. North. Am. – 2005. – Vol. 85, № 3. – P. 505-514.



ЗМІНИ
УЛЬТРАСТРУКТУРНОЇ
ОРГАНІЗАЦІЇ КЛІТИН
СЛИЗОВОЇ ОБОЛОНКИ
СТРАВОХОДУ ЩУРІВ
З МОДЕЛЬОВАНОЮ
СТРИКТУРОЮ ТРЕТЬОГО
СТУПЕНЯ

*В. В. Бойко,
Є. В. Шапринський,
В. П. Невзоров,
О. Ф. Невзорова*

Резюме. Проведено електронно-мікроскопічне дослідження субмікроскопічної організації базальних, шипуватих, поверхневих епітеліоцитів багатошарового незроговілого епітелію, гладких міоцитів м'язової пластинки і скорочувальних елементів м'язового шару стравоходу щурів з модельованою стриктурою третього ступеня. Виявлено вогнища лізису у ядерній мембрані, мембранах мітохондрій, ендоплазматичному ретикулумі і пластинчастому цитоплазматичному комплексі Гольджі. У клітинах стравоходу зі стриктурою третього ступеня розвиваються катаболічні процеси, що призводять до розпаду органел.

Ключові слова: *ультраструктура клітин стравоходу, стриктура стравоходу, катаболічні процеси.*

CHANGES OF
ULTRASTRUCTURAL
ORGANIZATION OF CELLS
OF ESOPHAGEAL MUCOSA
OF RATS WITH THE THIRD
DEGREE ESOPHAGEAL
STRICTURE IN EXPERIMENT

*V. V. Boyko,
E. V. Shaprynskyy,
V. P. Nevzorov, O. F. Nevzorova*

Summary. Electronic microscopy examination of the submicroscopic organization of epithelial cells of multilayered epithelium, smooth myocytes of a muscular plate and contractile elements of the muscle layer of the esophagus in rats with the third degree esophageal stricture in experiment was conducted. The focal lysis of nuclear membrane, mitochondrial membrane, endoplasmic reticulum and lamellar cytoplasmic Golgi complex was revealed. Catabolic processes develop in esophageal cells with the third-degree stricture and lead to the disintegration of organelles.

Key words: *ultrastructure of cells of esophagus, stricture of esophagus, catabolic processes.*